

谷子 *DREB* 转录因子基因的克隆及其在干旱胁迫下的表达模式分析

杨希文¹, 胡银岗^{1,2}

(1. 西北农林科技大学农学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 陕西省农业分子生物学重点实验室, 陕西 杨凌 712100)

摘 要: 为了挖掘谷子的抗旱基因, 根据小麦转录因子基因 *TaDREB6* 的序列设计引物, 从谷子中分离到一个 *DREB* 基因的 cDNA 序列, 长 1 113 bp, 编码 259 个氨基酸, 具有 *DREB* 类转录因子典型的 N-末端碱性核定位信号和高度保守的 AP2/ERF 结构域。植物 *DREB* 类氨基酸序列多重比较分析表明, 谷子 *DREB* 基因属于 *DREB2* 类转录因子, 暂命名为 *SiDREB2*。半定量 RT-PCR 表达模式分析表明, 在谷子幼苗干旱胁迫过程中, 谷子 *SiDREB2* 基因在正常生长情况下有低水平的表达, 在干旱胁迫期间诱导上调表达, 说明谷子 *SiDREB2* 基因的表达受干旱胁迫诱导, 可能是谷子抗旱节水的關鍵基因。该基因的克隆为进一步探讨其应用于农作物抗旱节水性状的遗传改良奠定了基础。

关键词: 谷子; *DREB*; 干旱复水; 表达模式; 进化分析

中图分类号: S515 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7601(2011)05-0069-06

谷子属 C4 植物, 与 C3 植物相比, 水分利用效率高, 光合速率较高, 干物质积累快^[1], 具有耐旱、耐贫瘠等特点, 是一种抗逆性很强的作物, 也是源于中国的古老作物^[2]。随着全球缺水和气候变暖形势的日益严峻, 对作物的抗旱节水性状进行遗传改良, 提高作物水分利用率, 已成为目前研究的一个热点^[3]。研究水分利用效率高的植物资源如谷子的抗旱节水机制, 从中挖掘新的基因资源, 是小麦、水稻、玉米等作物水分利用效率改良的重要途径。

长期以来, 植物为适应干旱等逆境胁迫, 进化产生了一系列对逆境胁迫的防御机制^[4]。在干旱胁迫条件下, 植物的许多基因可以被诱导表达^[5], 进而引起植物体内抵御胁迫的反应。*DREB* 转录因子属于 AP2/ERF 转录因子家族, 能特异地结合 DRE/CRT 元件, 调控相关抗逆基因的表达, 激活靶基因的转录^[6]。从多种植物中克隆的 *DREB* 转录因子基因来看, *DREB* 转录因子基因受特定环境^[7,8]、激素^[9]等诱导特异性表达。对小麦^[10-12]、玉米^[13]、拟南芥^[14,15]、大豆^[16]、棉花^[17]、辣椒^[18]等植物 *DREB* 转录因子基因的研究表明, 其表达受干旱胁迫、低温、高盐胁迫、ABA 处理等非生物胁迫诱导, 是生物抵抗多种胁迫的重要调控元件。谷子中 *DREB* 转录因子基因的研究尚未见报道, 其在谷子逆境胁迫中的功能也不清楚。

本研究采用同源基因克隆的方法克隆了一个谷子的 *DREB* 转录因子基因, 并采用半定量 RT-PCR 表达分析技术, 以谷子 *Actin* 基因为内参, 对其在干旱胁迫下的谷子叶片中的表达模式进行了分析, 以揭示其在抗旱节水中的功能, 为进一步研究该基因的功能及其利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为谷子品种冀谷 18, 由河北省农林科学院谷子研究所选育, 具有富硒, 成穗率高, 抗逆性较强等特性, 该品种在承德、赤峰、汾阳、固原等干旱地区表现良好, 已在广泛推广应用。

1.2 谷子幼苗的胁迫处理

挑选外形饱满的谷子种子, 用 1% 次氯酸钠消毒 10 min, 冲洗后用少量蒸馏水浸泡过夜, 再置于加有蒸馏水的培养皿中水培, 7 d 后幼苗长至二叶期, 然后将其分成两组, 一组正常灌水作为对照, 另一组进行自然干旱处理, 在轻度干旱(叶片黄绿, 叶尖微垂)、中度干旱(叶片深绿, 叶片下垂)、重度干旱(叶片灰绿, 整株生理萎蔫)时分别取样, 重度干旱处理后立即进行复水处理, 分别于复水后 2、6、12 h 取样。样品于液氮中速冻, -70℃ 保存备用。

收稿日期: 2011-06-10

基金项目: 863 重点项目子课题(2006AA100201, 2006AA100223); 科技部 973 计划前期项目(2006CB708208); 高等学校学科创新引智计划项目(111-2-16)

作者简介: 杨希文(1985—), 男, 山东济宁人, 硕士研究生, 主要从事作物分子遗传育种研究。E-mail: wmyxw@yahoo.com.cn。

通讯作者: 胡银岗(1967—), 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事作物抗旱节水遗传改良研究。E-mail: huyingang@nwsuaf.edu.cn。

1.3 总 RNA 提取及 cDNA 合成

将采集的幼叶用液氮研磨,参照 Trizol 试剂盒 (Takara, 大连)说明书,提取总 RNA,然后用 DNaseI (Takara, 大连)处理去除存在的痕量 DNA。采用 AMV 反转录酶和 Oligo(dT)₁₈ (Takara, 大连)进行反转录,合成 cDNA 第一链,反应后加入适量的 DEPC-H₂O 稀释后保存,用于半定量 RT-PCR 分析。

1.4 谷子 DREB 基因的 cDNA 克隆

根据已克隆的小麦 *TaDREB6* 基因序列 (Gene bank 登录号 AY781361.1),利用 primer 5.0 设计用于谷子 *DREB* 基因克隆的 PCR 引物 DREB-F:5'-AGAAGCACTGGTCTGAT-3'和 DREB-R:5'-AGTTCCTGATGGACCATG-3'。以谷子对照处理总 RNA 合成的 cDNA 第一链为模板进行 PCR 扩增,反应程序为:95℃ 预变性 3 min;95℃ 40 s,55℃ 45 s,72℃ 40 s,共 35 个循环;72℃ 延伸 8 min,反应后于 4℃ 保温。1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物,琼脂糖凝胶回收试剂盒 (Agarose GelDNA Purification Kit Ver 2.0, TaKaRa, 中同大连)回收目的片段,与 pGEM-T 载体 (Promega, 美国)连接,转化大肠杆菌 DH5α,用含青霉素的 LB 平板和 SP6、T7 引物菌落 PCR 筛选阳性克隆,送上海生工进行测序。

1.5 半定量 RT-PCR 表达模式分析

以对照 cDNA 为模板,以谷子 *Actin* 基因 (Gene bank: AF282625.1)为内参,其引物序列为:Actin-F:5'-ACCGAAGCCCCTCT-TAACCC-3'和 Actin-R:5'-GCGCTGTTGCTGATTTCG-3',以 *Actin* 基因和 *DREB* 基因引物进行不同循环数的 PCR 扩增,确定适宜的循环数。95℃ 预变性 3 min;95℃ 40 s,55℃ 45 s,72℃ 40 s,循环次数依次为 23、26、28、30、33、36、39 和 42 个循环,72℃ 延伸 8 min,分别取 10 μL 扩增产物,在 TAE 电泳缓冲液中,1% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增 PCR 产物,EB 染色,紫外灯下用 G-BOX 公司凝胶成像系统 GeneSnap 和 Gene Tools 软件进行成像和光密度扫描分析,根据光密度值的变化,选择处于对数期的半定量 RT-PCR 的循环数。

以各处理的总 RNA 合成的 cDNA 第一链为模板进行谷子 *DREB* 基因的半定量 RT-PCR 表达模式分析。所用引物同上,调整半定量 RT-PCR 所用的各处理的模板 cDNA 用量。20 μL 反应体系中包含:经内参调整的适宜体积的 cDNA 模板,10 × PCR Buffer 2 μL,dNTP(2 mmol/L)2 μL,正向引物(10 mmol/L)0.25 μL,反向引物(10 mmol/L)0.25 μL,Taq DNA polymerase(5 U/μL)0.2 μL,ddH₂O 补齐至 20 μL,反应程序为:95℃ 预变性 3 min;95℃ 40 s,55℃ 45 s,72℃ 40 s,共 36 个循环;72℃ 延伸 8 min,用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物,溴化乙锭染色,凝胶成像系统进行成像,并采用 Gene Tools 软件进行相对定量分析。

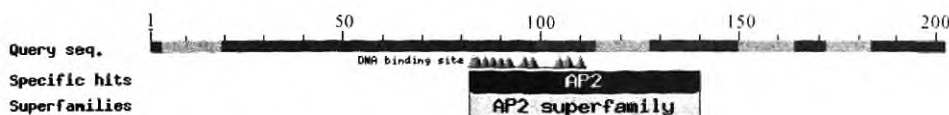
1.6 序列的生物信息学分析

利用 NCBI(www.ncbi.nih.gov)的 BLAST 在线分析工具进行序列比对分析。采用 NCBI 的 ORF finder 预测开放阅读框 (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/),采用 ExPASy 网站的 ComputePI/MW tool 计算蛋白质的等电点、分子量及二级结构预测 (http://www.ex-pasy.org/tools/pi_tool.html)。采用 DNAMAN5.2.2 (Lynnon Biosoft Corp.)进行序列多重比较及系统进化树构建。

2 结果与分析

2.1 谷子 DREB 基因的克隆及序列分析

以谷子对照处理的叶片 cDNA 为模板,扩增得到单一条带,测序结果表明该片段长度为 1178 bp,预测结果表明,该序列的最大读码框为 780 个核苷酸,编码 259 个氨基酸,该蛋白的等电点为 5.32,分子量为 28190.36 Da,该编码蛋白具有 DREB 高度保守的 AP2/ERF 结构域(图 1)。利用 ExPASy 的蛋白质二级结构预测工具 hnn 进行分析显示,该蛋白质主要由 α 螺旋、β 片层和无规则卷曲二级结构单元组成,所占的比例分别为 36.29%、8.88% 和 54.83%。



注:数字:序列长度;浅色:偏成分区域;深色:结构域

Note: NO.: sequence length; Light shade area: Compositionally Biased Regions; Dark shade area: Conserved domains

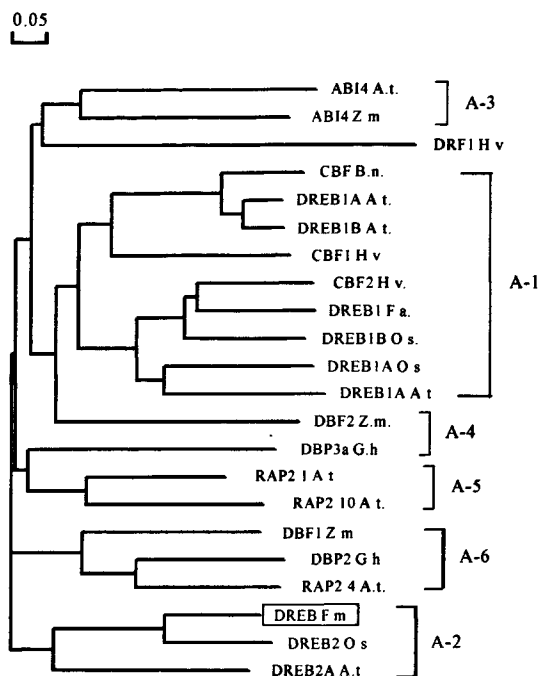
图 1 谷子 *DREB* 基因的保守区分析

Fig.1 Conserved domains of *DREB* gene in Foxtail millet

根据 Sakuma 等^[19]的分类方法,从拟南芥 AP2/

ERF 家族每个小组中,分别选取有代表性的基因作

为分类的基本框架,然后将 GenBank 中登陆并且有文献报道的、其他植物的 *DREB* 类转录因子 DNA 结合域的氨基酸序列,用 DNAMAN 软件进行序列比对分析,并构建进化树(图2)。结果表明,谷子 *DREB* 转录因子与 *DREB2 O.s.*、*DREB2 A A.t.* 划分为 A-2 group,表明谷子 *DREB* 基因属于 *DREB2* 类转录因子,将其命名为 *SiDREB2*。



注(Notes):所用序列及其 GenBank 登录号(Name of gene sequences and their GenBank Accession No.): CBF1 H.v. (AF418204)、*DREB1A A.t.* (AB007787)、*DREB1B A.t.* (AB007788)、CBF B.n. (AF370733)、CBF2 H.v. (AF442489)、*DREB1 F.a.* (AJ634001)、*DREB1A O.s.* (AF300970)、*DREB1B O.s.* (AF300972)、*DREB1A Z.m.* (AF450481)、DBF2 Z.m. (AF493799)、DBP3a G.h. (DQ224382)、*DREB2 O.s.* (AF300971)、*DREB2A A.t.* (AB007790)、DRF1 H.v. (AY223087)、ABI4 A.t. (NM129580)、ABI4 Z.m. (AY125490)、RAP2.1 A.t. (NM103607)、RAP2.10 A.t. (NM119854)、DBF1 Z.m. (AF493800)、DBP2 G.h. (AY619718) 和 RAP2.4 A.t. (NM106457)。

图2 *DREB* 类氨基酸序列的进化树

Fig.2 Phylogenetic tree based on amino acid sequence of *DREB*

2.2 PCR 循环数的确定

半定量 RT-PCR 分析需要通过组成性表达的内参基因的 PCR 扩增将不同处理材料的反应起始模板量调整到一致的水平,进而对目的基因或基因片段进行扩增,分析其表达量在不同处理下的差异。在 PCR 扩增对数期,模板量与扩增产量成正比,而在 PCR 扩增后期其产量将不随模板量增加而增加。因此,首先需要进行 *DREB* 基因和 *Actin* 基因不同循环数的 PCR 扩增,选择处于对数期的半定量 RT-PCR 的循环数。结果表明, *DREB* 基因和 *Actin* 基因

分别在 30 和 36 个循环之前为对数期,之后进入平台期(图3)。为了保证 PCR 产量,在对数期内选择的循环数不能太低,因此,本研究选择 *DREB* 基因和 *Actin* 基因的循环数分别为 33 和 36。为了避免同管扩增中内参基因对 *DREB* 基因扩增效率的影响,保证扩增体系中两个片段的扩增均处于线性期,本研究采用同批异管扩增。

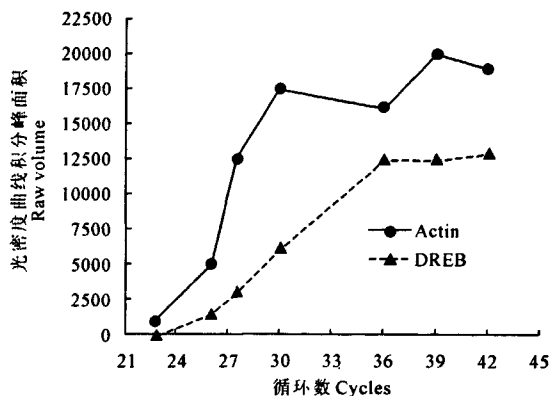


图3 *DREB* 和 *Actin* 基因不同循环数的 PCR 结果

Fig.3 PCR amplification of *DREB* and *Actin* at different cycles

2.3 不同水分胁迫时间下 *DREB* 的半定量 RT-PCR 结果

利用内参引物调整不同干旱胁迫与复水处理的谷子叶片 cDNA 的用量,使内参基因扩增产物亮度基本一致,利用半定量 RT-PCR 对谷子 *DREB* 基因在不同干旱处理条件下的谷子叶片中的表达进行了分析,并利用 GeneSnap 软件分析其相对表达量。结果显示(图4),谷子 *DREB* 基因的大量表达受干旱和复水的诱导。谷子 *DREB* 基因在谷子正常生长(对照组)时有一定量的表达;在干旱胁迫下(中度干旱)表达量升高,干旱胁迫非常严重时(重度干旱)表达受到抑制,表达量降低到比正常生长的表达量还低的水平;在严重干旱后复水后 2 h,该基因的表达量再一次升高,随后降低至正常水平。谷子 *DREB* 基因的表达高峰出现在干旱胁迫与严重干旱后复水的初期,说明该基因参与谷子对干旱胁迫及复水处理的响应过程。

3 讨论

AP2/EREBP 家族是植物中特有的一大类转录因子。拟南芥中有 145 个 AP2/EREBP 转录因子,根据 DNA 结合结构域的不同分为 AP2、*DREB*、ERF、RAV 和其他类别 5 个亚族,其中, *DREB* 转录因子参与对干旱、高盐和低温等逆境胁迫的应答,介导植物非 ABA 依赖的渗透胁迫信号的传递^[14]。 *DREB* 可

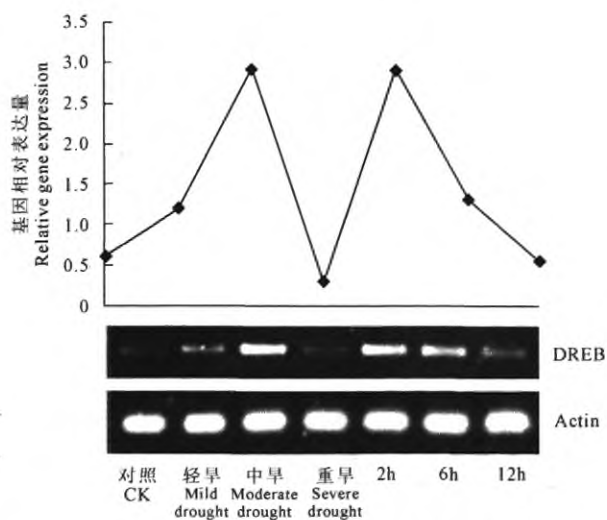


图 4 谷子 *SiDREB2* 基因在干旱胁迫和复水条件下的表达模式(2、6 和 12 h 为复水后的时间)

Fig. 4 The expression profiling of *SiDREB2* gene in Foxtail millet under drought stress and re-watering

以特异地与 DRE 顺式作用元件结合,在非生物逆境胁迫中激活一系列靶基因的表达^[20]。近年来的研究表明^[21],很多这一系列靶基因参与了植物多种胁迫的抗逆反应,表明 DREB 在植物的抗逆反应中具有重要的作用。Seki 等^[22]鉴定出了 40 多个 DREB 的靶基因,这些靶基因编码的产物包括脯氨酸、蔗糖等渗透保护剂生物合成的酶,膜蛋白,LEA 蛋白,毒性降解酶,分子伴侣及转录因子等。Maruyama 等^[23]将鉴定的 38 个 DREB 诱导的基因分为 2 组,第一组是直接参与胁迫抗性中发挥作用的功能蛋白(LEA 蛋白、抗冻蛋白、亲水蛋白等);第二组是参与胁迫反应中信号转导和基因表达的蛋白质因子(C2H2 锌指 DNA 结合蛋白、ERF/AP2 型 DNA 结合蛋白和 STZ、磷脂酶 C)。

目前许多植物的 DREB 基因已经被克隆,DREB 转录因子特异地存在于植物中,受特定环境^[5,6],激素^[7]等诱导特异性表达。迄今报道的 DREB 转录因子基因内均无内含子,分析表明 DREB 属于 AP2/EREBP 转录因子家族中的一类多基因家族,含有一个 AP2/EREBP 结构域^[24]。AP2/EREBP 结构域第 14 位的缬氨酸(V)和第 19 位的谷氨酸(E),对决定 DREB 转录因子与 DRE 顺式作用元件的特异性结合起关键作用^[13,25]。拟南芥的 *DREB1D/CBF4*^[26]与 *DREB1A/CBF3*、*DREB1B/CBF1* 和 *DREB1C/CBF2*^[27-29] 序列一致性很高,在叶片中有一定的表达量。DREB 基因受多种胁迫诱导表达,小麦至少有六个 DREB 基因,其中 *DREB2*、*CBF2-1* 和 *CBF2-2* 特异地受干

旱和低温的诱导表达^[10-12],辣椒和大豆各有一个 DREB 基因在盐胁迫和 ABA 处理的幼苗中诱导表达^[16-18]。Tang^[30]等研究表明高羊茅 *FaDREB* 转录因子受低温强烈诱导表达。Hong 和 Kim^[17]等发现辣椒 DREB 基因受干旱胁迫诱导表达,同时该基因的表达也受低温、机械损伤的诱导。谷子 *SiDREB2* 在干旱胁迫下强烈诱导表达,说明谷子 *SiDREB2* 可能对干旱的应答反应起着重要作用。最近研究表明,玉米的 *ZmDBF1* 基因受干旱、高盐 and ABA 的诱导^[31],棉花的 *GhDBP2* 和 *GhDBP3* 基因受干旱,高盐,低温和 ABA 的诱导^[32],大豆的 *GmDREB2* 基因也受干旱、高盐、低温和 ABA 的诱导^[33],说明不同植物中类似的 DREB 基因,其参与的细胞内信号转导的途径可能不同,根据结合域,DREB 亚族被分为 6 个组^[19],谷子 DREB 属于 A-2 组。研究表明,A-1 和 A-2 组的 DREB 基因不受 ABA 的诱导,表明其可能参与非依赖 ABA 诱导的信号传导途径。本研究也发现谷子 DREB 基因的表达受干旱和复水的诱导。

本实验克隆到一个谷子的 DREB 基因,半定量 RT-PCR 分析表明该基因受干旱胁迫和复水诱导,因而推测该基因可能参与谷子抗旱与水分高效利用代谢途径的调控。目前正在构建其过量表达载体,以转化小麦等作物,探讨其改良作物抗旱节水性的可行性。该基因的克隆为进一步探讨利用该基因改良谷子和其他作物的抗旱节水性奠定了良好的基础。

4 结 论

克隆到一个谷子 DREB 基因的 cDNA 序列,长 1113 bp,编码 259 个氨基酸,具有 DREB 高度保守的 AP2/ERF1BP 结构域。序列分析表明,谷子 DREB 基因属于干旱胁迫相关的 DREB2 类转录因子。半定量试验结果显示,谷子 DREB 基因在幼苗干旱胁迫时诱导表达,干旱胁迫严重时表达受到严重抑制,严重干旱后复水 2 h 后表达再一次增强,复水 6 h 后其表达量再一次降低,表明谷子 DREB 基因的表达受干旱胁迫和复水诱导。

参 考 文 献:

- [1] 廖建雄,王根轩.谷子叶片光合速率日变化及水分利用效率[J].植物生理学报,1999,25(4):362-368.
- [2] 杨官厅,韩淑云.谷子耐旱性鉴定初探[J].干旱地区农业研究,1992,10(2):98-102.
- [3] 张正斌,徐 萍,周晓果,等.作物水分利用效率的遗传改良研究进展[J].中国农业科学,2006,39(2):289-294.
- [4] 邵宏波.小麦抗旱生理生化和分子生物学研究进展与趋势[J].

- 草业学报, 2006, 15(3): 5—17.
- [5] 山 仑, 陈培元. 作物抗旱生理生态与旱地农业 [C]//旱地农业生理生态基础. 北京: 科学出版社, 1998: 1—17.
 - [6] Agarwal P K, Agarwal P, Reddy M K, et al. Role of DREB transcription factors in abiotic and biotic stress tolerance in plants [J]. Plant Cell Report, 2006, 25: 1263—1274.
 - [7] Choi DW, Rodriguze EM, Close TJ. Barley Cbf3 gene identification, expression pattern, and map location Plant Physiology [J]. 2002, 129 (4): 1781—1787.
 - [8] Park JM, Park CJ, Lee SB, et al. Overexpression of the Tobacco Tsi1 Gene Encoding an EREBP/AP2 - Type Transcription Factor Enhances Resistance against Pathogen Attack and Osmotic Stress in Tobacco [J]. Plant Cell, 2001(13): 1035—1046.
 - [9] Huang B, Jin L G, Liu J Y. Molecular cloning and functional characterization of a DREB1/CBF-like gene (GhDREB1L) from cotton [J]. Science in China Series C-Life Sciences, 2007, 50(1): 7—14.
 - [10] Jaglo K R, Kleff S, Amundsen K L, et al. Components of the Arabidopsis C-repeat/dehydration-responsive element binding factor cold-response pathway are conserved in Brassica napus and other plant species [J]. Plant Physiology, 2001, 127(3): 910—917.
 - [11] Shen YG, Zhang WK, He SJ, et al. An EREBP/AP2 - type protein in Triticum aestivum was a DRE-binding transcription factor induced by cold, dehydration and ABA stress [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2003, 106(5): 923—930.
 - [12] Kume S, Kobayashi F, Ishibashi M, et al. Differential and coordinated expression of Cbf and Cor/Lea genes during long-term cold acclimation in two wheat cultivars showing distinct levels of freezing tolerance [J]. Genes Gene Systems, 2005, 80(3): 185—197.
 - [13] QIN Feng, LI Jie, ZHANG Gui-you, et al. Isolation and structural analysis of DRE-binding transcription factor from maize (*Zea mays* L.) [J]. Acta Botanica Sinica, 2003, 45(3): 331—339.
 - [14] Liu Q, Kasuga M, Sakuma Y, et al. Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought- and low-temperature-responsive gene expression, respectively, in Arabidopsis [J]. Plant Cell, 1998, 10(8): 1931—1946.
 - [15] Haake V, Cook D, Riechmann J L, et al. Transcription Factor CBF4 Is a Regulator of Drought Adaptation in Arabidopsis [J]. Plant Physiology, 2002, 130: 639—648.
 - [16] Li XP, Tian AG, Luo GZ. et al. Soybean DRE-binding transcription factors that are responsive to abiotic stresses [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 110(8): 1355—1362.
 - [17] 黄 波, 金龙国, 刘进元. 棉花中一个类 DREB1/CBF 基因 (GhDREB1L) 的分子克隆及其功能分析 [J]. 中国科学 C 辑: 生命科学, 2006, 36(5): 390—397.
 - [18] Hong JP, kim WT. Isolation and functional characterization of the Ca-DREB1P1 gene encoding a dehydration-responsive element binding-factor-like protein 1 in hot pepper (*Capsicum annuum* L. cv. Pukang) [J]. planta, 2005, 220(6): 875—888.
 - [19] Sakuma Y, Liu Q, Dubouzet J G, et al. DNA-binding specificity of the ERF/AP2 domain of Arabidopsis DREBs, transcription factors involved in dehydration- and cold-inducible gene expression [J]. Biochemical and Biophysical Research Communication, 2002, 290: 998—1009.
 - [20] Gilmour S J, Zarka D G, Stockinger E J, et al. Thomashow M F Low temperature regulation of the Arabidopsis CBF family of AP2 transcriptional activators as an early step in cold-induced COR gene expression [J]. Plant Journal, 1998, 10(3): 433—443.
 - [21] 姚 觉, 于晓英, 邱 收, 等. 植物抗旱机理研究进展 [J]. 华北农学报, 2007, 22(增刊): 51—56.
 - [22] Seki M, Narusaka M, Abe H, Kasuga M, et al. Monitoring the expression pattern of 1300 Arabidopsis genes under drought and cold stresses by using a full-length cDNA microarray [J]. Plant Cell, 2001, 13(1): 61—72.
 - [23] Kyonoehin Maruyama Y S, Mie Sakuma, Yusuke Ito, et al. Identification of cold-inducible downstream genes of the Arabidopsis DREB1A/CBF3 transcriptional factor using two microarray systems [J]. Plant Journal, 2004, 38(6): 982—993.
 - [24] 王少峡, 王振英, 彭定康. DREB 转录因子及其在植物抗逆中的应用 [J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(1): 7—13.
 - [25] sakuma Y, Liu Q, Dubouzet J G, et al. Yamaguchi-Shinozaki K DNA-binding specificity of the ERF/AP2 domain of Arabidopsis DREBs, transcription factors involved in dehydration- and cold-inducible gene expression [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2002, 290(3): 998—1009.
 - [26] Haake V, Cook D, Riechmann J L, et al. Transcription factor CBF4 is a regulator of drought adaptation in Arabidopsis [J]. Plant Physiol, 2002, 130(2): 639—648.
 - [27] Gilmour S J, Sebolt AM, Salazar MP, et al. Overexpression of the Arabidopsis CBF3 transcriptional activator mimics multiple biochemical changes associated with cold acclimation [J]. Plant Physiol, 2000, 124(4): 1854—1865.
 - [28] Shinwari Z K, Nakashima K, Miura S, et al. An Arabidopsis gene family encoding DRE/CRT binding proteins involved in low-temperature-responsive gene expression [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 250(1): 161—170.
 - [29] Medina J, Bargues M, Terol J, et al. The Arabidopsis CBF gene family is composed of three genes encoding AP2 domain-containing proteins whose expression is regulated by low temperature but not by abscisic acid or dehydration [J]. Plant Physiol, 1999, 119(2): 463—470.
 - [30] Tang M J, Lu S Y, Jing Y X. et al. Isolation and identification of a cold-inducible gene encoding a putative DRE-binding transcription factor from *Pestuca arundinacea* [J]. Plant Physiology And Biochemistry, 2005, 43(3): 233—239.
 - [31] Kizis D, Pages M. Maize DRE-binding proteins DBF1 and DBF2 are involved in rab17 regulation through the drought responsive element in an ABA-dependent pathway [J]. Plant Journal, 2002, 30(6): 679—689.
 - [32] Huang B, Liu J Y. Cloning and functional analysis of the 110 vel gene GhDBP3 encoding a DRE-binding transcription factor from *Gossypium hirsutum* [J]. Biochemistry and Biophysics Acta, 2006, 1759(2): 263—269.
 - [33] Chen M, Wang Q Y, Cheng X G, et al. GmDREB2, a soybean DRE-binding transcription factor, conferred drought and high-salt tolerance [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 353: 299—305.

Cloning of a DREB gene from foxtail millet(*Setaria italica* L.) and its expression during drought stress

YANG Xi-wen¹, HU Yin-gang^{1,2}

(1. College of Agriculture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2. Shaanxi Key Laboratory of Molecular Biology for Agriculture, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: A DREB gene was amplified from Foxtail millet by PCR using a pair of primers designed on the sequences of *Triticum aestivum* TaDREB6 gene, the foxtail millet DREB gene was 1 113 bp in length, encoding 259 amino acids with basic amino acid regions possible nuclear location sequences(NLSs) and a highly conserved AP2/EREBP domain in the encoded putative protein. Multiple alignment analysis based on the amino acids encoded by DREB genes in plants showed that the Foxtail millet DREB gene was a member of DREB2 transcription factor family, and designed as SiDREB2. The expression patterns of SiDREB2 during drought stress were investigated by means of semi-quantitative RT-PCR. The results showed that the expression patterns of SiDREB2 during drought stress was up-regulated, which suggested that it was involved in the response of foxtail millet to drought stress and might be one of the key genes for drought tolerance and water use efficiency of foxtail millet. The cloning of this gene may provide the potential for its utilization in the improvement of drought tolerance and water use efficiency in other plants.

Keywords: foxtail millet; DREB transcription factor; drought and re-watering; express profile; phylogenetic analysis

(上接第 68 页)

Research progress of comprehensive effect under different rates straw mulch on the rainfed farming areas, China

I. Effect of different rates of straw mulch on farmland eco-environment

CAI Tai-yi^{1,2}, JIA Zhi-kuan¹, HUANG Yao-wei³, HUANG Hui-juan², YANG Bao-ping¹,

ZHANG Rui¹, HAN Qing-fang¹, NIE Jun-feng¹

(1. The Chinese Arid Area Research Institute of Water-saving Agriculture, Northwest A & F University, Yangling,

Shannxi 712100, China; 2. Henan Polytechnic University, Jiaozuo, He'nan 454000, China;

3. The Agriculture Department of Henan Province, Zhengzhou, He'nan 450008, China)

Abstract: With the water-saving agriculture and soil carbon cycle theory development and maturity, straw mulch research for a novel of contemporary conservation agriculture one of the issues, much attention. In order to deeply understand the straw mulch comprehensive ecological effects of farmland, the paper reviews the different straw mulch on soil temperature, moisture, nutrients, enzymes, soil carbon, biological structures and farmland weed pest and microclimate of status and progress of the research to the field of research and development of reference.

Keywords: rainfed farming areas; straw mulch rates; ecological effects; research progress